

## 신속한 적조 예찰이 가능한 형광 측정시스템 개발

백경훈<sup>1</sup> · 오영지<sup>2</sup> · 조현서<sup>3</sup> · 강윤자<sup>3</sup> · 이준석<sup>1,+</sup>

### Development of a Fluorescence Measurement System Capable of Rapid Red Tide Monitoring

Kyung-hoon Baek<sup>1</sup>, Yeongji Oh<sup>2</sup>, Hyeonseo Cho<sup>3</sup>, Yoonja Kang<sup>3</sup>, and Joon-seok Lee<sup>1,+</sup>

#### Abstract

The occurrence of harmful algae on the coast of Korea has been a cause of damage to the aquaculture industry and deterioration of the coastal ecosystem environment. A method is required to predict their outbreak in real-time at the site. Therefore, this study attempted to develop a small hybrid optical sensor and real-time monitoring system based on LiDAR that can be used in the field and laboratory and can be applied to various platforms. FMS-L specifically suggested the amount of Chlorophyll a (Chl a) in the sample by measuring and analyzing the fluorescence emitted by the irradiating light. The accuracy of FMS-L was verified by measuring the concentrations of standard Chlorophyll a substances and Margalfidinium polykirkoids. In addition, the precision was verified by comparing the measurement results of FMS-L using commercial equipment Phyto-PAM-II. This equipment is compact and easy to move. Therefore, it can be easily applied to field surveys, allows short time measurements (10 s), and can be applied at a distance of 10 m from the measurement site.

**Keywords:** LiDAR, Real-time monitoring system, Fluorescence, Chlorophyll a, Harmful algal blooms

#### 1. 서 론

해양 오염의 주요 인자 중 하나인 적조는 해양에서 조류가 대량으로 번식하여 수질의 변색, 악취, 어패류 손상, 용존산소 부족 및 저서 생물의 변화 등 다양한 생태계 이상현상을 유발하여 인간과 각종 동식물에 악영향을 끼치며 우리나라의 대표적인 유해성 적조 생물인 '코클로디니움'은 여름철 대만 난류를 따라 우리나라 연안으로 유입돼 고수온과 햇볕 등 성장에 좋은 환경이 되면 대규모 적조를 일으키며 독성은 없으나 다량의 점액질을 분비하는데, 이 점액질이 산소공급을 차단해 어패류의 폐사를 유발한다[1].

국내에서 시행하는 적조 측정 방법은 육안 관찰법이나 조류 발생지에서 시료를 샘플링한 후 실험실 기반 분석 장비를 이용하여 적조 발생 농도를 판단하는 등 시간이 많이 소요되고, 고비용 및 정확도 문제 등의 한계를 가지고 있다. 최근, 한국해양과학기술원에서는 우리나라 연안에 막대한 피해를 가져오는 적조생물의 발생을 사전에 탐지할 수 있는 '실시간 적조 탐지 음향시스템'을 LIG 넥스원과 공동으로 개발하였으며[2], 이 시스템은 초음파에 대한 적조생물의 음향산란 특성[3]을 이용한 것으로, 해상의 부이나 이동하는 선박에 설치하여 운용 중이며 상용화된 장비로는 에스토니아의 LDI와 미국의 YSI, BBE에서 개발한 형광 측정 기반의 제품들이 출시되고 있는 실정이지만 일반적으로 침수형이거나 원격 측정 거리가 3m 이하로 짧다는 단점을 가지고 있다.

본 연구의 목적은 신속한 적조 예찰이 가능한 형광 측정시스템을 개발하여 기존의 한계를 극복하고, 다양한 응용 분야에서 형광 분석을 효과적으로 수행할 수 있는 기반을 마련하는 것이다. 이를 통해 높은 정확도와 빠른 응답 속도를 갖는 형광 측정 기술을 제시함으로써, 다양한 실제 환경에서의 응용 가능성을 확장하고자 한다.

#### 2. 연구 방법

본 연구에서는 현장 및 실험실에서 사용할 수 있고 다양한 플

<sup>1</sup> (주)마하테크 부설연구소 (Research Institute, MachTech Co.,Ltd.)  
333, Cheomdangwagi-ro, Buk-gu, Gwangju, Republic of Korea

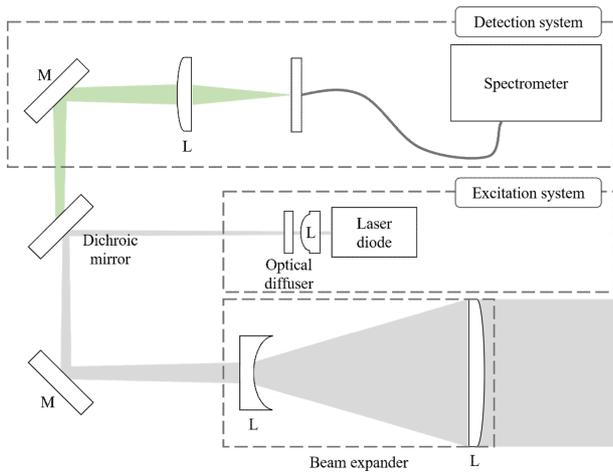
<sup>2</sup> 전남대학교 환경해양학과 (Department of Environmental Oceanography, Chonnam National University)  
50, Daehak-ro, Yeosu-si, Jeollanam-do, Republic of Korea

<sup>3</sup> 전남대학교 해양융합과학과 (Department of Ocean Integrated Science, Chonnam National University)  
50, Daehak-ro, Yeosu-si, Jeollanam-do, Republic of Korea

<sup>+</sup>Corresponding author: ljspb@naver.com

(Received: Jan. 10, 2024, Revised: Jan. 16, 2024, Accepted: Jan. 18, 2024)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



**Fig. 1.** Fluorescence Measurement System based on LiDAR(L : Convex or Concave Lens)

랫폼에 적용이 가능한 LiDAR기반의 소형 하이브리드 광센서 및 실시간 모니터링 시스템(FMS-L, Fluorescence Measurement System based on LiDAR)을 개발하였으며, FMS-L은 조사해역에 광을 조사하여 방출되는 형광을 측정하고 분석하는 방법을 통해 시료 내의 Chlorophyll a (Chl a)의 양을 구체적으로 제시하였다. Fig. 1은 여기 광학계(excitation system)와 검출 광학계(detection system)를 이색성 거울(dichroic mirror, Di03-R442-t3-25x36, Semrock)과 자체 제작한(home-made) 빔 확대기(beam expander)를 설치하여 두 광학계가 동일한 광축(optical axis)을 갖도록 통합 설계한 시스템의 개략도다.

Fig. 1의 여기 광학계에서 다이오드 레이저(PL TB450B, Osram)는 중심 파장 450 nm / 1.2 W 광학 출력(optical power)의 광을 방출할 수 있고, 레이저 광-출력단 전면에 광학 디퓨저(optical diffuser)와 광학 렌즈를 설치함으로써 레이저에서 방사되는 여기광의 광 모드(optical mode)와 광축의 수직면에 대한 광학 세기(optical intensity)의 균일성을 개선하였으며, 이 여기광은 이색성 거울에서 반사되어 빔 확대기로 입사 후 광 직경이 ~ 5 cm로 확대되어 시료에 조사된다. 검출 광학계는 여기광에 의해 시료에서 발현되는 일부 형광이 빔 확대기로 입사한 후, 이색성 거울에서 470 nm 보다 장파장의 광만 투과하게 되고 집광 렌즈를 거쳐 광섬유(QP400-1-VIS-NIR, Ocean Optics)에 접속되어 분광기(USB2000+VIS-NIR-ES, Ocean Optics)로 도달 및 가시광선 영역에서 형광 스펙트럼으로 분광 된다.

여기 광학계에서는 0.5 Hz 변조 주파수(modulation frequency)와 50% 듀티 사이클(duty cycle)의 펄스-폭 변조(pulse width modulation, PWM) 신호에 의해 on/off 동작이 제어된 레이저는 빔 확대기를 거쳐 600 mW 광 출력(optical power)의 여기광을 방출하게 되고, 검출 광학계의 분광기는 100 ms 노출시간(integration time)으로 레이저의 변조 주파수에 동기화되어 레이저의 on/off 상태에서 각각 스펙트럼을 측정한다. ‘on’ 상태에서 측정된 스

펙트럼을 ‘A’, off 상태에서 획득된 스펙트럼을 ‘B’로 정의하여 여기광 이외의 주변광에 의한 노이즈를 최소화하기 위해 ‘A-B’를 취하게 되고, 최종적으로 동일한 동작 방식으로 10회 측정된 ‘A-B’ 값을 산술 평균하여 형광 스펙트럼을 실험 결과로 출력하게 된다. 출력한 스펙트럼 중 적조 발생 농도를 나타내는 구간인 677 ~ 680 nm 파장 범위의 세기의 합을 평균하여 나타내었다.

개발한 시스템과 앞에서 언급한 스펙트럼 획득 방식으로 Chlorophyll a 표준시약(SIGMA-ALDRICH, 1 mg, 미국)과 Margalefidinium polykrikoides(=Cochlodinium polykrikoides, 한국해양과학기술원 해양시료도서관에서 분양받은 배양주, LIMS-PS-2381)를 측정하여 정확도를 검증하였다.

Chlorophyll a 표준시약의 경우 99.5% 아세톤(대정화금, 한국) 1 L에 녹여 970 µg/L의 클로로필 표준용액을 제조한 후 아세톤을 첨가하여 다양한 농도의 실험군을 제조(실험군의 농도는 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 970 µg/L) 하였으며, 대조군은 아세톤을 이용하였다.

Margalefidinium polykrikoides의 경우 농도가 3,000 cells/mL 이상 고밀도로 성장하였을 때 수행하였으며, GSe medium을 첨가하여 다양한 농도의 시험군(100, 250, 500, 1,000, 1,500 cells/mL)을 제조하였고 대조군은 GSe medium을 이용하였다.

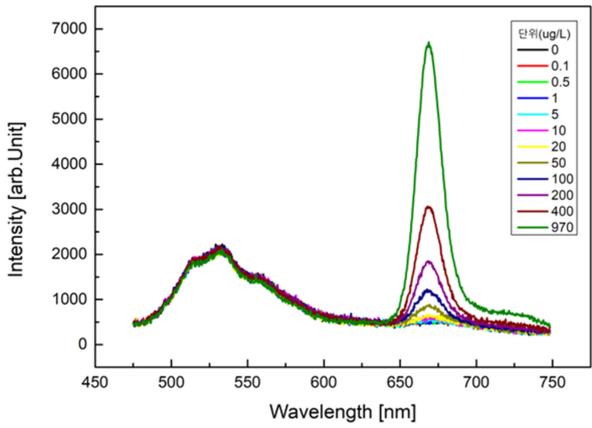
Chlorophyll a 표준시약과 Margalefidinium polykrikoides의 실험군은 5 ml씩 3개의 반복구를 준비하여 측정하였으며, 각각의 실험군 및 대조군은 페트리디쉬(55 × 12 mm, 두원메디텍, 한국)에 담은 뒤 FMS-L와 거리를 10 m 로 조절하여 설치하여 측정 실험을 진행하였다.

위 시료들은 Chlorophyll a를 측정하는 기존 방법인 Phyto-PAM-II를 이용하여 결과 비교를 통해 FMS-L의 정밀도를 검증하였다.

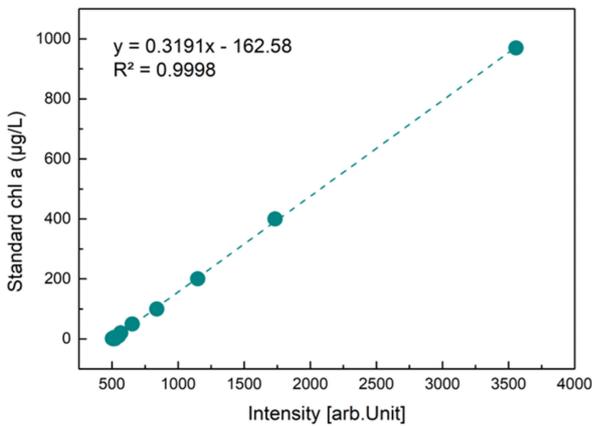
### 3. 결과 및 고찰

Chlorophyll a 표준시약에 아세톤을 첨가하여 제작한 실험군에 FMS-L 장비를 이용하여 측정한 형광 스펙트럼은 Fig. 2(a)에서 확인할 수 있으며, Fig. 2(b)는 Chlorophyll a 표준시약 농도에 따라 677 ~ 680 nm 파장 범위의 세기의 합을 평균한 데이터와의 상관관계를 나타내는 Fitting 데이터로서 FMS-L 장비가 Chlorophyll a 표준시약을 농도별 측정하는데 상당히 유의한 결과값을 나타내는지 확인할 수 있다. ( $R^2=0.9998$ )

Margalefidinium polykrikoides에 GSe medium을 첨가하여 제작한 다양한 농도의 실험군 스펙트럼은 Fig. 3(a)에서 확인할 수 있으며, Fig. 3(b)는 Margalefidinium polykrikoides 개체수의 다양한 농도에 따른 677 ~ 680 nm 파장 범위의 세기의 합을 평균한 데이터와의 상관관계를 나타내는 Fitting 데이터로서 빠른 유영 능력을 가지고 있는 와편모조류 종으로 실험 중에도 빠른 유영 때문에 반복구들의 값에서 차이를 보일 수 있으나 모든 반



(a)



(b)

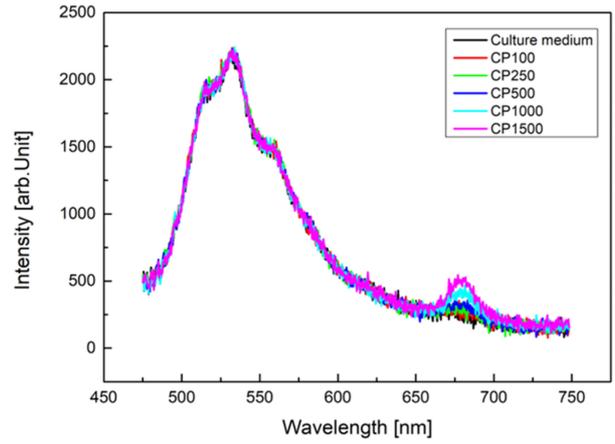
**Fig. 2.** Fluorescence spectrum according to change in concentration of Chlorophyll a (a) and Chlorophyll a concentration value according to fluorescence signal measurements (b)

복구 값을 함께 비교한 결과 FMS-L 장비가 *Margalefidinium polykrikoides* 개체수를 측정하는데 상당히 유의한 결과값을 나타내는 것을 확인할 수 있다. ( $R^2 = 0.9486$ )

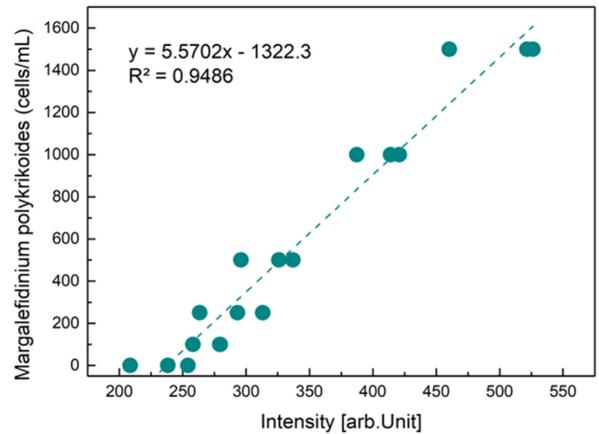
이는 적조 발생시 패치(patch)를 이루고 적조 패치마다 적조 개체수의 밀도가 상이한 것을 볼 때 (Hattenrath-Lehmann et al., 2019), 10m 떨어진 거리에서 FMS-L 장비를 이용하여 적조종의 개체수 측정이 가능함을 보인다.

Fig. 2와 Fig. 3에서 확인한 것과 같이 FMS-L 장비를 이용하여 Chlorophyll a 표준시약과 *Margalefidinium polykrikoides*의 측정 가능함을 확인하였으며, Fig. 4는 적조 현장에서 Chlorophyll a를 측정하는데 주로 이용되는 Phyto-PAM II(Walz, 독일)를 이용하여 FMS-L에서 측정된 형광신호와 Phyto-PAM II으로 측정된 Chlorophyll a 값을 비교하여 상관관계 도출하였다.

Fig. 4(a)는 Chlorophyll a 표준시약을 이용하여 FMS-L의 형광신호와 Phyto-PAM II의 Chlorophyll a 값을 비교하였으며 ( $R^2 = 0.9935$ ), Fig. 4(b)는 *Margalefidinium polykrikoides*를 이용하여 FMS-L의 형광신호와 Phyto-PAM II의 Chlorophyll a 값



(a)



(b)

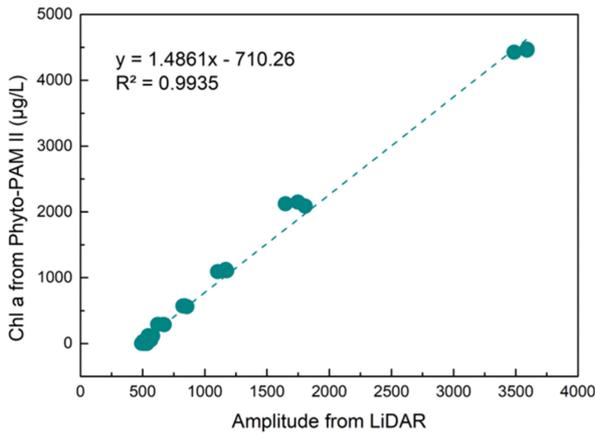
**Fig. 3.** Fluorescence spectrum according to changes in the number of *Margalefidinium polykrikoides* (a) and Number of *Margalefidinium polykrikoides* according to the change in fluorescence signal measurements (b)

을 비교하였다. ( $R^2 = 0.839$ )

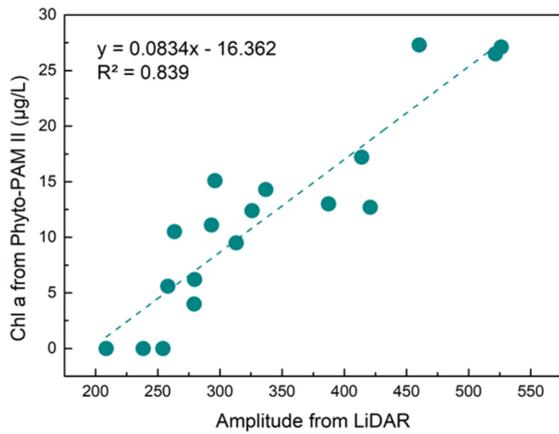
이는 FMS-L 장비의 형광신호값 보정을 통해 Phyto-PAM II를 대신하여 사용 가능함을 보인다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 해양에서 발생하는 적조의 농도를 측정할 수 있는 시스템(FMS-L)을 개발하였으며, 적조의 농도별 측정 가능성을 확인하기 위해 실내에서 10 m 떨어진 지점에서 Chlorophyll a 표준시약을 이용하여 농도별 형광 스펙트럼을 측정하였으며, 이후 적조 생물인 *Margalefidinium polykrikoides*의 개체수 농도별 형광 스펙트럼을 측정하였다. 최종적으로 적조 발생 현장에서의 사용 가능성을 확인하기 위해 주로 사용하고 있는 Phyto-PAM II 장비와 비교하여 상당히 유의한 결과를 얻었다. 하지만



(a)



(b)

**Fig. 4.** Measured value of Phyto-PAM II according to change in fluorescence signal measurement value (Chlorophyll a standard sample) (a) and Measured value of Phyto-PAM II according to change in fluorescence signal measurement value (Number of Margalfidinium polykrikoids) (b)

특정 대상에 따른 FMS-L 형광신호값의 보정이 필요한 점은 향후 보완해야할 사안으로 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 대한민국 정부(해양수산부)의 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임.

(사업명 : 해양수산 신산업 기술사업화 지원사업, 연구개발과제번호 : 20220486)

### REFERENCES

- [1] H. J. Yoon, "Meteorological information for red tide: Technical development of red tide prediction in the Korean coastal areas by meteorological factors", *J. Korea Inst. Inf. Commun. Eng.*, Vol. 9, No. 4, pp. 844-853, 2005.
- [2] <https://www.fnnews.com/news/201310171424444799> (retrieved on Nov. 1, 2014).
- [3] E. Kim, T.-H. Bok, J. Na, and D.-G. Paeng, "Characteristics of Backscattering of Harmful Algae Using Underwater Ultrasound", *J. Acoust. Soc. Korea*, Vol. 24, No. 8, pp. 447-453, 2005.